



(19)

(11) Publication number:

06308108 A

Generated Document.

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(21) Application number: 05101364

(51) Intl. Cl.: G01N 30/48

(22) Application date: 27.04.93

(30) Priority:	(71) Applicant: SHOWA DENKO KK
(43) Date of application publication: 04.11.94	(72) Inventor: KIMIZUKA HIROKO IWATA KAZUNORI SUZUKI HIROSHI
(84) Designated contracting states:	(74) Representative:

**(54) ADSORPTION CARRIER  
FOR CHROMATOGRAPHY AND  
ITS MANUFACTURE****(57) Abstract:**

**PURPOSE:** To generate an adsorption carrier by letting cyclodextrin having a vinyl group, or a vinyl group of a derivative of cyclodextrin react with a water-insoluble supporting body.

**CONSTITUTION:** For the water-insoluble supporting body, such one that has a functional group capable of bonding with a vinyl group or is introducible through graft polymerization, e.g. agarose, dextrin, cellulose or the like is used. For the cyclodextrin with a vinyl group (CD) or its derivative, for instance, acrylic ester with a residue of the CR or its derivative, or methyl methacrylate or the like is used. In order to obtain the CD with a vinyl group, the CD is dissolved or dispersed in a suitable solvent and, a vinyl derivative having a group capable of reacting with a vinyl group and a hydroxyl group of the CD is added. The obtained adsorption carrier for chromatography shows higher asymmetric identifying properties, making possible the separation of various kinds of optical isomers.

COPYRIGHT: (C)1994,JPO

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-308108

(43)公開日 平成6年(1994)11月4日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 30/48	N	8310-2 J		
// C 0 8 F 291/00	M P Z	7308-4 J		

審査請求 未請求 請求項の数2 OL (全 5 頁)

(21)出願番号	特願平5-101364	(71)出願人	000002004 昭和電工株式会社 東京都港区芝大門1丁目13番9号
(22)出願日	平成5年(1993)4月27日	(72)発明者	君塚 裕子 東京都大田区多摩川2丁目24番25号 昭和 電工株式会社総合技術研究所内
		(72)発明者	岩田 和則 東京都大田区多摩川2丁目24番25号 昭和 電工株式会社総合技術研究所内
		(72)発明者	鈴木 広志 東京都大田区多摩川2丁目24番25号 昭和 電工株式会社総合技術研究所内
		(74)代理人	弁理士 寺田 實

(54)【発明の名称】 クロマトグラフィー用吸着担体及びその製造方法

(57)【要約】

【目的】 不斉識別能に優れ、かつ製造が簡便で再現性、耐久性に優れたクロマトグラフィー用吸着担体及びその製造方法。

【構成】 水に不溶性の支持体にビニル基を有するシクロデキストリン又はその誘導体の該ビニル基を反応させてなるクロマトグラフィー用吸着担体及びその製造方法。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 水に不溶性の支持体にビニル基を有するシクロデキストリン又はその誘導体の該ビニル基を反応させてなることを特徴とするクロマトグラフィー用吸着担体。

【請求項2】 水に不溶性の支持体にビニル基を有するシクロデキストリン又はその誘導体をグラフト重合させることを特徴とするクロマトグラフィー用吸着担体の製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、新規なクロマトグラフィー用吸着担体及びその製造方法に関し、更に詳しくは不斉識別能を有するクロマトグラフィー用吸着担体及びその製造方法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】シクロデキストリン（以下CDという。）はD-グルコピラノシドが $\alpha-1$ 、4-グルコシド結合してなる円筒状の環状化合物であり、環状化合物の円筒の外側は水酸基が多く親水性を有するが、円筒の内側は疎水性を有する。このCDは円筒の内側が疎水性のため、フェニル基やナフチル基のような疎水性基を有する様々な有機化合物が包接されるホスト化合物として知られている。また、CDはD-グルコピラノシド1分子当たり5個の光学活性な炭素を有することから、不斉識別能を有する化合物としても知られている。

【0003】近年、光学活性化化合物の分離・精製の重要性が増し、CDが有する不斉識別能をこれに利用しようとする傾向が強まってきた。例えば、米国特許4,539,399号公報によればクロマトグラフィー用吸着担体として、エポキシ基を有するシリカゲル、または合成高分子等にCDを反応させてなる吸着担体を使用して、光学活性化化合物を分離・精製する方法が知られている。また、特開昭61-237057号公報には、前述と同様の内容のCD誘導体についてクロマトグラフィー用吸着担体を製造する方法が例示されている。

【0004】しかしながら、前記の従来の方法では、担体を製造するのが煩雑でしかも再現性や耐久性に乏しかったり、さらには分離能が不十分であるという問題点があった。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、不斉識別能に優れ、かつ担体の製造が簡便で再現性、耐久性に優れたクロマトグラフィー用吸着担体及びその製造方法を提供することにある。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記目的を達成するためになされたものであって、水に不溶性の支持体にビニル基を有するCD又はその誘導体の該ビニル基を反応させてなることを特徴とするクロマトグラフィー

用吸着担体及びその製造方法に関する。

【0007】以下、本発明のクロマトグラフィー用吸着担体及びその製造方法について説明する。本発明における水に不溶性の支持体とは、グラフト重合を行うことによりビニル基と結合可能な官能基、例えばアルコール性水酸基、アルケニル基、アルキニル基、メルカプト基、アミノ基、ホルミル基、アセチル基、カルボキシル基、ハロゲン基のような官能基を有するもの、または導入可能なものであれば特に制限はなく、アガロース、デキストラン、セルロースなどの多糖体およびポリアクリルアミドのような所謂ソフトビーズ、ポリスチレン、ポリメタクリレート、ポリビニルアルコールおよびこれらの共重合物のような硬質の合成高分子ビーズ、またはシリカゲル、アルミナのような無機の硬質ビーズなどを例示することができる。ビーズの粒径、形状および細孔の有無とその孔径は特に制限はないが、通常1~1000 $\mu$ m、好ましくは3~120 $\mu$ mが適当であり、ビーズの形状は多孔性球状が好ましい。

【0008】本発明において使用されるCDとしては、例えば $\alpha$ -シクロデキストリン、 $\beta$ -シクロデキストリン、または $\gamma$ -シクロデキストリンが挙げられ、またCD誘導体としては、例えばヒドロキシアシル化シクロデキストリン、グリコシル化シクロデキストリンのように水酸基を有する置換基で修飾されたものの他、メチル化シクロデキストリン、アシル化シクロデキストリンであっても水酸基を1個以上有しているCDであれば良く、またこれらの混合物であってもこれらの誘導体であっても良い。

【0009】また、本発明に用いられるビニル基を有するCD又はその誘導体としては、例えばCD又はその誘導体残基を有するアクリル酸エステルあるいはメタクリル酸エステルや、CD又はその誘導体残基を有するアクリロイルオキシヒドロキシプロピルエーテルあるいはメタクリロイルオキシヒドロキシプロピルエーテル、さらにCD又はその誘導体残基を有するメタクリロイルオキシエチルカーバメイトなどが挙げられる。

【0010】本発明のクロマトグラフィー用吸着担体は、次に説明する方法で製造することができる。即ち、ビニル基を有するCDを得るに際しては、CDを適当な溶媒に溶解または分散させた後、ビニル基とCDの水酸基と反応可能な基とをあわせて有するビニル誘導体を加える。

【0011】溶媒としては、CDとビニル誘導体との反応を阻害することなく、CDを溶解または分散し得る溶媒であれば特に制限はなく使用することができる。そのような溶媒としては、水、有機溶媒では、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミドなどのアルキルアミド系、イソプロピルエーテル、1,4-ジオキサン、テトラヒドロフランなどのエーテル系、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸イソプロピル、酢酸ブチ

ル、酢酸イソアミルなどのエステル系、クロロホルム、ジクロロメタン、四塩化炭素などのハロゲン化炭化水素系、ベンゼン、トルエンなどの芳香族炭化水素系、ピリジン、キノリン、トリエチルアミンなどのアミン系などが例示される。これらの溶媒は、単独で使用しても良いし、2種類以上の溶媒を混合しても良い。

【0012】ビニル誘導体としては、ビニル基とCDの水酸基と反応可能な基とをあわせて有するものであれば特に制限はなく、例えばCDの水酸基と直接反応するアクリル酸クロライド、メタクリル酸クロライドのようなハライド基を有する化合物、グリシジルアクリレート、グリシジルメタクリレートのようなエポキシ基を有する化合物、または2-メタクリロイルオキシエチルイソシアネートのようなイソシアネート基を有する化合物などが挙げられる他、CDの水酸基と縮合剤を加えることにより反応するアクリル酸、メタクリル酸などのカルボキシル基を有する化合物などを挙げることができる。

【0013】CDの水酸基と直接反応するビニル誘導体を用いる場合には、CDを前述の溶媒に溶解または分散させた後、ビニル誘導体をCD1当量あたり0.5~50当量、好ましくは1~7当量加え、ビニル誘導体をCDに導入する。この反応に際しては脱水剤を入れた乾燥装置を付した反応器で0.5~48時間、好ましくは1~24時間反応させる。この時の反応温度は0℃~80℃、好ましくは0℃~30℃に保つことが望ましい。さらに反応液に貧溶媒を沈澱が析出するまで加えた後、沈澱物を濾取し、さらに前記貧溶媒でよく洗浄し乾燥させるなどして、前記のビニル基を有するCDが得られる。貧溶媒としては、例えばアセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、シクロヘキサノンなどのケトン系などが挙げられる。

【0014】また、CDの水酸基と縮合剤を加えることにより反応するビニル誘導体を用いる場合には、例えば泉屋信夫ら、『ペプチド合成の基礎と実験』41~88ページ(丸善)に記載されているようにして行うことができる。具体的には、CD及びビニル誘導体を適当な溶媒、例えば水、有機溶媒では、N、N-ジメチルホルムアミド、N、N-ジメチルアセトアミドなどのアルキルアミド系、イソプロピルエーテル、1,4-ジオキサン、テトラヒドロフランなどのエーテル系、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸イソプロピル、酢酸ブチル、酢酸イソアミルなどのエステル系、クロロホルム、ジクロロメタン、四塩化炭素などのハロゲン化炭化水素系、ベンゼン、トルエンなどの芳香族炭化水素系、ピリジン、キノリン、トリエチルアミンなどのアミン系などに溶解または分散させた後、縮合剤として例えばN、N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド、N、N'-ジサクシイミジルカーボネート、N、N'-カルボニルジイミダゾール、N-エチル-N'-ジメチルアミノプロピルカルボジイミド、塩化チオニルなどを用い、反応させる。この

反応におけるビニル誘導体の使用量は、CD1当量あたり0.5~50当量、好ましくは1~7当量であり、また、縮合剤の使用量としては、CD1当量あたり0.6~60当量、好ましくは1~7当量である。

【0015】この反応に際しては前記CDの水酸基と直接反応するビニル誘導体を用いる場合と同様な反応条件で行う。また、ビニル基を有するCD誘導体を得るに際しては、CDの代わりにCD誘導体を用い、同様の操作を行うことにより得られる。さらに、これらの反応を行う場合には、CDまたはその誘導体を使用前に乾燥させることが望ましい。CD誘導体は、公知の方法(テトラヘドロン(Tetrahedron)、1983、39、P.1417参照)、または市販品であるヘプタキス(2,6-ジ-*O*-メチル)- $\beta$ -シクロデキストリン(Aldrich製)などにより得られる。具体的には、例えばヒドロキシプロピル- $\beta$ -シクロデキストリンを得るに際しては、 $\beta$ -シクロデキストリンとモノクロロプロピルアルコールとをアルカリ存在下で加熱することにより得られる。

【0016】前述のビニル基と反応可能な官能基を有する水に不溶性の支持体に、ビニル基を有するCD又はその誘導体を反応させるに際しては、前記支持体を適当な溶媒に分散させた後、前記支持体にラジカルを生成させ、さらに前述の方法で得られたビニル基を有するCD又はその誘導体を反応させる。ラジカルを生成させる方法としては、例えば光、放射線などを照射させる方法、ラジカル開始剤を加える方法などが挙げられる。光、放射線などを照射させる方法としては、例えば神原周ら、『高分子反応』171~189ページ(共立出版)に記載されているようにして行うことができる。

【0017】また、ラジカル開始剤を加える方法としては、前記支持体を適当な溶媒に分散させた後、ラジカル開始剤を加え、さらに前述の方法で得られたビニル基を有するCD又はその誘導体を反応させる。ラジカル開始剤としては、例えば過酸化物系、アゾビス系、レドックス系などの中から重合溶媒への溶解度にあわせて選択することが出来る。そのような重合開始剤としては、例えば過酸化水素、過酸化ベンゾイル、*t*-ブチルパーオキシマレイン酸、コハク酸パーオキシド、ベンゾイルパーオキシド、ラウロイルパーオキシド、アセチルパーオキシドなどの過酸化物系、2,2'-アゾビスイソブチロニトリル、2,2'-アゾビス(2-アミノジプロパン)二塩酸塩、2,2'-アゾビス[2-メチル-N-(ヒドロキシメチル)プロピオンアミド]などのアゾビス系、硝酸セリウムアンモニウム、過硫酸カリウムなどのレドックス系などが挙げられる。

【0018】この反応におけるラジカル開始剤の使用量は、ビニル基を有するCD又はその誘導体に対して0.001~5重量%、好ましくは0.005~3重量%である。重合に使用する溶媒はラジカル重合を阻害するこ

となく、ビニル基を有するCD又はその誘導体を溶かし得る溶媒であれば特に制限はなく使用することが出来る。そのような溶媒としては、水、有機溶媒では、N、N-ジメチルホルムアミド、N、N-ジメチルアセトアミドなどのアルキルアミド系、イソプロピルエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフラン、などのエーテル系、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸イソプロピル、酢酸ブチル、酢酸イソアミルなどのエステル系、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、シクロヘキサノンなどのケトン系、ベンゼン、キシレン、トルエン、ニトロトルエンなどの芳香族炭化水素系、クロロホルム、ジクロロメタン、四塩化炭素などのハロゲン化炭化水素などが例示される。これらの溶媒は、単独で使用するでも良いし、2種類以上の溶媒を混合しても良い。

【0019】この反応に際しては、必要であれば脱水剤を入れた乾燥装置を付した反応器で0.5~48時間、好ましくは1~24時間反応させる。この時の反応温度は10℃~80℃、好ましくは20℃~60℃に保つことが望ましい。反応生成物を濾取し、必要に応じてさらに前記溶媒で洗浄などを行い、本発明のクロマトグラフィー用吸着担体を得られる。この時、分離能をさらに良くするため、さらに固定化量を増加させなければ前記操作を数回行うことにより、CD又はその誘導体の固定化量の高いクロマトグラフィー用吸着担体を得られる。

【0020】本発明に従えば、水に不溶性の支持体にビニル基を有するシクロデキストリン又はその誘導体の該ビニル基を反応させてなることを特徴とするクロマトグラフィー用吸着担体を得ることが出来るが、このようなクロマトグラフィー用吸着担体は単なる液体クロマトグラフィー用吸着担体から高速液体クロマトグラフィー用吸着担体として利用でき、カラムに充填するなどにより光学異性体だけではなく、位置異性体や幾何異性体をはじめ様々な異性体も分離することができる。

#### 【0021】

【実施例】以下、実施例をあげて本発明をさらに詳細に説明する。但し、これらは本発明のクロマトグラフィー用吸着担体の一例であって、本発明はこれらに何等制限されないのは言うまでもない。

#### 【0022】実施例1

モノ(6-O-(2-メタクリロイルオキシエチルカルバモイル))-β-シクロデキストリン固定化担体の製造

グリシジルメタクリレートとグリセリンジメタクリレートから得られたエポキシ基含有ゲル状共重合体中のエポキシ基を水により開環変性し、真空下で5時間乾燥した。この担体10gに、1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテル(以下1,4-BGEと略記する)10gを加え、さらに1Mの水酸化ナトリウム水溶液20mlを加えて30℃で5時間振盪後、担体を濾取し水、1Mの塩化ナトリウムおよびアセトンで洗浄した。この

1,4-BGE固定化担体(エポキシ基;乾燥担体1g当り250μmol)10gに、0.1Mの硫酸水溶液50mlを加え70℃で1時間振盪後、担体を濾取し、水およびアセトンで洗浄した。このようにしてビニル基を有するCD及びその誘導体と結合可能な基を有する支持体が製造された。

【0023】β-シクロデキストリン10gをN,N-ジメチルホルムアミド200mlに溶解させ、氷冷下で2-メタクリロイルオキシエチルイソシアネート1.54gを攪拌しながら10分間かけ滴下する。次いで、トリエチルアミン3mlを加え、20℃で12時間攪拌後、反応液にアセトン300mlを加えた。これによって生じた沈澱を濾取した後、残渣をアセトン洗浄して白色固体のモノ(6-O-(2-メタクリロイルオキシエチルカルバモイル))-β-シクロデキストリン5.79gを得た。

【0024】以下にこの化合物の物性を示す。

<sup>1</sup>H核磁気共鳴スペクトル

(溶媒;重水、内部標準;トリメチルシリルプロパンスルホン酸塩)ppm

1.79(3H,1重線) 3.40~4.00(42H,多重線)

4.92(7H,2重線) 5.59(1H,1重線)

6.01(1H,1重線)

赤外分光スペクトル(KBr)cm<sup>-1</sup>

1635,1720(主な吸収のみ)

【0025】先に述べたような方法で得られた支持体10gに水250mlと硝酸セリウムアンモニウム0.08gを分散させ、さらに前記の方法で得られたモノ(6-O-(2-メタクリロイルオキシエチルカルバモイル))-β-シクロデキストリン2.5gを加え25℃で10時間攪拌後、担体を濾取し水及びメタノールでよく洗浄した。こうして得られた担体はNの元素分析により、β-シクロデキストリンを乾燥担体1g当り約0.025mmol固定化していることが確かめられた。

#### 【0026】実施例2

モノ(6-O-メタクリロイル)-β-シクロデキストリン固定化担体の製造

実施例1においてモノ(6-O-(2-メタクリロイルオキシエチルカルバモイル))-β-シクロデキストリンの代わりに、モノ(6-O-メタクリロイル)-β-シクロデキストリンを用いた他は、実施例1と同様の操作を行うことにより、モノ(6-O-メタクリロイル)-β-シクロデキストリン固定化担体を得た。こうして得られた担体は、重量増加率によりβ-シクロデキストリンを乾燥担体1gあたり0.05mmol固定化していることが確かめられた。

#### 【0027】実施例3

モノ(6-O-アクリロイル)-β-シクロデキストリン固定化担体の製造

実施例1においてモノ(6-O-(2-メタクリロイルオキシエチルカルバモイル))- $\beta$ -シクロデキストリンの代わりに、モノ(6-O-アクリロイル)- $\beta$ -シクロデキストリンを用いた他は、実施例1と同様の操作を行うことにより、モノ(6-O-アクリロイル)- $\beta$ -シクロデキストリン固定化担体を得た。こうして得られた担体は、重量増加率により $\beta$ -シクロデキストリンを乾燥担体1gあたり0.05mmol固定化していることが確かめられた。

#### 【0028】比較例

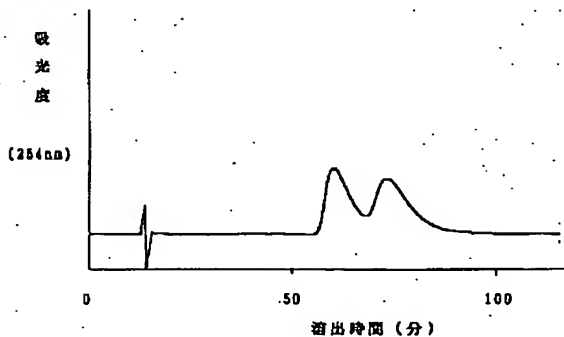
##### $\beta$ -シクロデキストリン固定化担体の製造

実施例1で用いた1, 4-BGE固定化担体10gに $\beta$ -シクロデキストリン20gを加え、さらに0.067Nの水酸化ナトリウム溶液100mlを加え30℃で48時間攪拌後、担体を濾取し水およびアセトンで洗浄した。こうして得られた担体は、重量増加率により $\beta$ -シクロデキストリンを乾燥担体1gあたり0.025mmol固定化していることが確かめられた。

#### 【0029】応用例

実施例1で得られたモノ(6-O-(2-メタクリロイルオキシエチルカルバモイル))- $\beta$ -シクロデキストリン固定化担体と比較例で得られた $\beta$ -シクロデキストリン固定化担体を、各々内径4.6mm長さ150mmのステンレス製クロマト管にスラリー法で充填し、高速液体クロマトグラフ装置を用いて、(+, -)-アミノグルテチイミドを分析した。図1に実施例1で得られたクロマトグラフィー用吸着担体を用いて分析したクロマトグラムを示し、図2に比較例で得られた $\beta$ -シクロデキストリン固定化担体を用いて分析したクロマトグラム

【図1】



を示す。

【0030】分析条件は以下の通りである。

溶離液：2%酢酸-トリエチルアミン緩衝液(pH6.5)：アセトニトリル(9：1)

流速：0.25ml/分

カラム温度：10℃ 検出器：紫外分光光度計(商品名：Shodex UV-41；昭和電工(株)製)

検出波長：254nm

この結果より本発明により得られたクロマトグラフィー用吸着担体は、従来の方法により得られたクロマトグラフィー用吸着担体と比べて、高い不斉識別能を有することが明らかである。

#### 【0031】

【発明の効果】本発明のクロマトグラフィー用吸着担体は、応用例から明らかなように、水に不溶性の支持体にビニル基を有するシクロデキストリン又はその誘導体の該ビニル基をグラフト重合することにより、従来のエポキシ基を有する水に不溶性の支持体にCDを反応させるなるクロマトグラフィー用吸着担体よりも、高い不斉識別能を示すものである。従って本発明に係るクロマトグラフィー用吸着担体は、種々の光学異性体分離の可能性を有するほか、単なる分析や分取手段にとどまらず幅広い工業用分離精製設備への応用を計るための有力な手段となることは明かである。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】実施例1の担体を用いたクロマトグラムである。

【図2】比較例の担体を用いたクロマトグラムである。

【図2】

